

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)



B6

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Übersetzung der
europäischen Patentschrift

⑧7 EP 0 330 389 B 1

⑩ DE 689 28 051 T 2

⑤1 Int. Cl.⁶:
C 07 K 14/78
C 08 H 1/00
C 07 K 1/107
A 61 L 27/00

②1 Deutsches Aktenzeichen: 689 28 051.3
⑧6 Europäisches Aktenzeichen: 89 301 580.0
⑧6 Europäischer Anmeldetag: 17. 2. 89
⑧7 Erstveröffentlichung durch das EPA: 30. 8. 89
⑧7 Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: 21. 5. 97
④7 Veröffentlichungstag im Patentblatt: 23. 4. 98

DE 689 28 051 T 2

③0 Unionspriorität:
157638 18. 02. 88 US

⑦3 Patentinhaber:
Collagenesis Inc. (n.d.Ges.d. Staates Florida),
Acton, Mass., US

⑦4 Vertreter:
Spott Weinmiller & Partner, 80336 München

⑧4 Benannte Vertragsstaaten:
BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI

⑦2 Erfinder:
Kelman, Charles D., New York, New York 10022, US;
DeVore, Dale P., Chelmsford, MA 01824, US

⑤4 Behandlung von humanem Kollagen und Verwendung als Auto-Implantat

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patentamt inhaltlich nicht geprüft.

DE 689 28 051 T 2

GEBIET UND HINTERGRUND DER ERFINDUNG

Die vorliegende Erfindung betrifft das Verarbeiten von menschlichem Collagen und die Verwendung als Autoimplantat, und insbesondere eine chemisch modifizierte, vernetzbare, telopeptidhaltige, natürlich vernetzte, solubilisierete, collagenartige Substanz, die direkt aus intaktem menschlichem Gewebe von einem einzigen menschlichen Spender erhalten ist, um sie in verschiedenen Formen in den gleichen Spender zu implantieren, und das Verfahren zur Herstellung eines solchen Produkts.

Die Collagene sind im allgemeinen ubiquitäre Proteine, die im Tierreich gefunden werden. Alle bekannten Collagene besitzen stäbchenförmige Strukturen. Interstitielle Collagene sind 3000 Å lang und 15 Å im Durchmesser. Die Konformation und die meisten Eigenschaften von nativem Collagen werden durch die Triple-Helix-Domäne bestimmt, die mehr als 95 % des Moleküls ausmacht. Diese Domäne besteht aus drei Ketten (α -Ketten), wobei jede etwa 1000 Aminosäuren enthält, die in einer strangähnlichen Art gewickelt sind, um eine feste Triple-Helix-Struktur zu bilden. Die Triple-Helix ist in einer solchen Art gewunden, daß die benachbarten Aminosäuren verbindenden Peptidbindungen im Inneren des Moleküls verborgen sind.

In nativen Molekülen behält die Triple-Helix ihre Resistenz gegen Angriffe durch übliche Proteasen, wie Pepsin. Collagenmoleküle (Tropocollagen), die in extrazellären Matrices gefunden werden, enthalten auch kurze (zum Beispiel etwa 16 bis 25 Peptideinheiten) nicht helikale Extensionspeptide, die als "Telopeptide" bezeichnet werden, an sowohl den NH- als auch COOH-terminalen Enden jeder Alphakette. Diese Telopeptide sind für proteolytischen Abbau und Entfernung unter Bedingungen anfällig, bei denen der triple-helikale Körper intakt gelassen wird (als Atelopeptidcollagen).

Natives Collagen liegt im allgemeinen vor in Bindegewebe als telopeptidhaltige Tropocollagenmoleküle in einem nebeneinander gepackten Zustand in der Form von Fibrillen, wobei jede longitudinale Schicht zusammengesetzt ist aus schwach longitudinal voneinander beabstandeten Molekülen, die der Länge nach angeordnet sind, die longitudinal relativ zu der nächsten aufeinander folgenden lateral benachbarten longitudinalen Schicht gestaffelt sind, was in Löchern zwischen gegenüberstehenden Endregionen von aufein-

ander folgenden Molekülen in einer gegebenen longitudinalen Schicht resultiert, und die durch gestaffelte Seiten des Moleküls in parallelen longitudinalen Schichten gebunden sind, die daran lateral benachbart sind.

Diese Fibrillen, zum Beispiel von etwa 5 bis 7 parallel zusammengepackten Schichten, sind andererseits in Bündeln angeordnet, um Fasern zu formen, die zusammen mit den Zellen selbst im Gewebe in einer Grundsubstanz von nicht collagenem Material als Matrix existieren. Im Knochen können solche Löcher in der gestaffelten Packungsanordnung Mineralsubstanzen, wie Calciumphosphat, enthalten.

In dieser nativen Form sind benachbarte telopeptidhaltige Endreste eines gegebenen Moleküls in einer Fibrille mit helikalen Regionen von benachbarten Molekülen vernetzt. Die helikalen oder zentralen Regionen der Polypeptidketten oder Stränge eines gegebenen Moleküls sind an jedes andere vernetzt (intramolekulares Crosslinking), um eine Triple-Helix zu bilden. Das Telopeptid und helikale Regionen von benachbarten Molekülen sind in ähnlicher Weise mit Strängen von benachbarten Molekülen vernetzt (intermolekulares Crosslinking), wodurch wasserstoffvernetztes oder gebundenes und covalent vernetztes oder kondensiertes, unlösliches Collagen gebildet wird. Wo wenig, falls überhaupt, stabilisierte, reduzierbare Vernetzungsstellen vorliegen, werden die Moleküle in der Fibrille als löslich betrachtet, das heißt das Collagen wird in wäßrigen Salzen, Säuren und Basen solubilisiert, wobei das hochstabilisierte, vernetzte, unlösliche Collagen un-solubilisiert zurückbleibt.

Der häufigste Collagentyp, der von vielen Bindegeweben von Erwachsenen isoliert wird, wie Haut, Knochen, Sehne und Hornhaut, isoliert wird, ist Typ-I-Collagen. Jedes Typ-I-Molekül ist aus zwei Alpha-1-(I)-Ketten und einer Alpha-2-(I)-Kette zusammengesetzt. Das gesamte Molekül wird Alpha-1-(I)₂-Alpha-2-(I) abgekürzt.

Collagen ist vermutlich das erste Biomaterial, das jemals vom Menschen für chirurgische Zwecke verwendet wurde. Getrockneter Darm, der hauptsächlich aus Collagen zusammengesetzt ist, wurde von ägyptischen Chirurgen als chirurgisches Nahtmaterial bis 3750 vor Christus zurück verwendet.

Eine Vielzahl von Eigenschaften des Collagens begünstigen seine Verwendung als Biomaterial; vergleiche Biomaterials in Reconstructive Surgery, Ch. 11, Simpson, "Collagen as a biomaterial", Seiten 109 bis 117, The C. V. Mosby Co., 1983. Es wird mit einer Geschwindigkeit absorbiert, die durch den Grad der chemischen Behandlung, der es unterzogen ist, kontrolliert wird. Man kann somit Collagenprodukte konstruieren, die bei der Implantation in Tiere in wenigen Tagen oder Monaten vollständig absorbiert werden. Man kann Collagen aus tierischer Quelle so chemisch behandeln, daß es im wesentlichen völlig nicht absorbierbar wird, während sein hydrophiler Charakter und seine gute Gewebeverträglichkeit erhalten bleiben.

Collagen weist einen hohen Zustand der Zugfestigkeit und niedrige Dehnbarkeit auf, und es kann in Membranen, Flächen, Röhren, Schwämme oder Fasern von kontinuierlicher Länge rekonstituiert werden. Als Membran ist es semipermeabel und ein guter Träger für Zellwachstum. Es weist arzneimittelbindende Eigenschaften auf und ist für alle praktischen Zwecke immunologisch inert.

Die chemischen und physikalischen Eigenschaften von Collagen, seine weit verbreitete Verteilung in vielen verschiedenen Geweben und die Fähigkeit, Collagen zu extrahieren und zu reinigen und dann in viele physikalische Formen zu rekonstituieren, scheinen das natürliche Polymer zu einem idealen Biomaterial zu machen. Viele Anwendungen für Collagenzusammensetzungen wurden vorgeschlagen:

(A) Collagenanwendungen in gelöster Form: Plasmaexpander und Arzneimittelfreisetzungsvehikel;

(B) Collagenanwendungen in Gelform: Glaskörperadditive und Kosmetika;

(C) Collagenanwendung in Staubform: hemostatisches Mittel;

(D) Collagenanwendungen in Faserform: Nahtmaterial, Weben von Blutgefäßen und Ventilprothesen;

(E) Collagenanwendungen in Film- oder Membranform: Hornhautersatz, Hemodialyse, künstliche Nieren, Wundverband, Reparatur einer Hernie und Pflaster (Aneurysm);

(F) Collagenanwendungen in Schwammform: Wundverband, Knochenknorpelersatz, chirurgische Tampons und Vaginalkontraceptiva und

(G) Collagenanwendungen in Röhrenform: Gefäßprothesen und Rekonstruktionschirurgie von Hohlorganen.

Bis vor kurzem jedoch war die einzige klinisch verfügbare Collagenvorrichtung Nahtmaterial vom Darm einer tierischen Quelle und von rekonstituiertem Collagen. Heute gibt es mindestens zwei zusätzliche klinische Vorrichtungen, die aus Collagen von einer tierischen Quelle zusammengesetzt sind, nämlich hemostatische Mittel und das Zyderm-Collagen-Implant (Collagen Corporation) oder ZCI; vergleiche Grosh et al, J. Am. Acad. Dermatol., 13: 792 bis 798, 1985.

Entsprechender Stand der Technik beschreibt Verfahren zum chemischen Modifizieren von löslichem Collagen durch Reaktion mit entweder Amin- oder Carboxylgruppen auf dem Collagenmolekül. Diese Verfahren machen das solubilisierete Collagen bei physiologischem pH löslich. Collagen wird im allgemeinen durch Behandeln mit Säuren solubilisiert einschließlich organischen Säuren, wie Essigsäure und Zitronensäure, und anorganischen Säuren, wie Salzsäure, und insbesondere Behandlung mit proteolytischen Enzymen. Die solubilisierten Collagene enthalten wenig, falls überhaupt, intermolekulare Vernetzungsstellen und bleiben unter sauren Bedingungen löslich und bilden spontan Fasern bei physiologischem pH.

Modifizierung von entweder den Amin- oder Carboxylresten ändert den pK des Moleküls. Beispielsweise ändert sich der pK von 7,0 auf 4,3 durch Modifizierung mit Bernsteinsäureanhydrid. Das succinylierte Collagen wird bei einem pH von 7,0 löslich bleiben und wird bei einem pH von 4,3 Fasern bilden.

Diese Gesamtverfahren entfernen jedoch die Telozeptidgruppen.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

Es ist unter anderem Aufgabe der Erfindung, eine chemisch modifizierte, vernetzbare, telopeptidhaltige, natürlich vernetzte, solubilisierete, collagenartige Substanz herzustellen, die direkt aus intaktem menschlichem Gewebe von einem einzigen Spender erhalten wird, zur Änderung des Zustands von in situ Gewebe des gleichen Spenders, zum Beispiel zur Vermehrung von weichem Gewebe, durch Autoimplantation.

In Kürze betrifft die Erfindung das Verarbeiten von Collagenen von einer Biopsie oder anderen Spezies menschlicher

Haut oder anderem menschlichem Gewebe (zum Beispiel Haut oder Knochen für Typ-I-Fasercollagen oder Knorpel für Typ-II-Collagen) zur Verwendung als ein biologisches Autoimplantat im gleichen Gewebe des Spenders alleine.

Solche Autoimplantate fassen zwei Hauptkategorien ins Auge, das heißt intradermale Implantate, um weiches Bindegewebe zu vermehren oder Hautdefekte, wie Falten oder Narben, zu korrigieren, und ophthalmische Implantate, zum Beispiel Intralamellar, Hornhaut oder wiederformende, glasartige und andere Implantate für die refraktive Chirurgie, um Refraktionssehfehler zu korrigieren, die Hornhautkrümmung zu verändern, den Glaskörper zu ersetzen und dergleichen, sowie andere Kategorien von Implantaten, wie die, die in anderen chirurgischen Verfahren verwendet werden, wo es ein Bedürfnis ist, den Zustand von verbindendem Gewebe zu ersetzen, zu vermehren oder in anderer Weise zu ändern, zum Beispiel in der Form von Matrixmaterial für Hauttransplantate, Matrixsubstanzen oder Komponenten für die Zellimpfung und Zelltransplantation, Materialmatrix für Kitt-Gewebe ("Putty"-Gewebe) oder Füllstoffe und dergleichen.

Die Erfindung betrifft auch neue Verarbeitungstechniken für die Extraktion von unlöslichem, natürlich vernetztem, nativem, telopeptidhaltigem Collagen von intaktem menschlichem Gewebe durch Umsetzen des Collagens, das alleine vom Spenderpatienten erhalten wurde, mit chemischen Reagenzien, die das unlösliche Collagen in physiologischen wäßrigen Lösungen löslich machen, im wesentlichen ohne saure oder alkalische Hydrolyse oder enzymatischem Abbau, und so, daß die extrahierten oder solubilisierten, telopeptidhaltigen, natürlich vernetzten Collagene weiter gereinigt und dann chemisch oder physikalisch behandelt werden können, um faserige Strukturen, staubähnliche Partikel, Gele, Schwämme, klare und farblose Lösungen oder Suspensionen oder dergleichen zur Autoimplantation in den gleichen menschlichen Spender zu schaffen.

In intaktem menschlichem Gewebe sind die telopeptidhaltigen Triple-Helix-Collageneinheiten der gestaffelten, gepackten Anordnung von Tropocollagenmolekülen der Fibrillen in einem hochvernetzten, unlöslichen Zustand. Die helikalen oder zentralen Regionen weisen viele Glycin-, Prolin- und Hydroxyprolin-Aminosäurereste auf, und das Telopeptid oder die Endanhangsregionen enthalten aromatische Reste (Tyrosin) und zeigen

nicht das Glycin-X-Y-Triplet, das in der helikalen Region gefunden wird.

Die individuellen helikalen Ketten oder Stränge des Triple-Helix-Moleküls sind in einer nebeneinander, intramolekular und/oder intermolekular vernetzten Anordnung entlang der entsprechenden Collagenpolypeptidhauptkette angeordnet, so daß die terminale Aminogruppe enthaltende Seite von jedem gegebenen Strang zu seinem benachbarten, nicht helikalen Telozeptidendrest verbunden ist, und die terminale Carboxylsäuregruppe enthaltende Seite des gleichen Strangs mit seinem benachbarten, nicht helikalen Telozeptidendrest verbunden ist. Die nicht helikalen Regionen sind mit helikalen Regionen von benachbarten Molekülen intramolekular vernetzt.

Früher wurden beim normalen Verarbeiten, um das Collagen durch Solubilisieren zu extrahieren, Bedingungen verwendet, die im Lösen der helikalen Stränge voneinander und/oder dem Lösen der Stränge von ihren Telozeptideinheiten resultieren, um individuelle Triple-Helix-Collagenstranguntereinheiten oder Atelopectide zu bilden. Dies macht normalerweise das resultierende Atelopectid oder solubilisiertes Collagen löslich bei saurem pH und unlöslich bei neutralem pH.

Bei der Erfindung wird das Extrahieren und Gewinnen des Collagens vom menschlichen Gewebe im wesentlichen ohne Lösen der Triple-Helikal-Stränge voneinander oder der Telopectidendreite von den entgegengesetzten Enden der helikalen Regionen der individuellen Stränge durchgeführt. Somit wird die ursprüngliche, intakte Verbindung der individuellen Einheiten entlang der Polypeptidhauptkette und die ursprünglichen, intakten, natürlichen Vernetzungsstellen zwischen benachbarten helikalen Strängen und zwischen benachbarten nicht helikalen Telopectideinheiten im wesentlichen geschützt. Statt dessen ist das intakte Collagen chemisch modifiziert, um es bei neutralem oder basischem pH zu solubilisieren und bei saurem pH unlöslich zu machen. Es wird angenommen, daß das telopectidhaltige, natürlich vernetzte Collagenprodukt der Erfindung ungleich zu früher verwendeten säurelöslichen und enzymverdauten Formen von extrahierten und chemisch modifizierten Atelopectidcollagenprodukten verträglicher mit der Gewebeumgebung des gleichen menschlichen Spenders und resistenter gegen Abbau, Absorption, Abstoßung oder anderen Angriffen von in

situ Bestandteilen des Spenders ist, möglicherweise, da es wünschenswerterweise frei von nicht collagenen Proteinverunreinigungen und vorzugsweise auch von Lipidbestandteilen gemacht ist, aber insbesondere, da die Telopeptidreste und die natürlichen Vernetzungsstellen erhalten und chemisch zusätzliche Vernetzungsstellen bereitgestellt sind.

Nicht antigenes Potential muß gefürchtet werden, da das Verarbeiten des menschlichen Gewebes, das durch die Erfindung ins Auge gefaßt wird, nur autologes Gewebe involviert, das von der gleichen Person, in die das Produkt reimplantiert wird, erhalten ist; im Gegensatz zu heterologem Gewebe, das von einer anderen Person als die, in die das Produkt transplantiert wird, erhalten ist.

Daher wird wegen der autologen Natur des menschlichen Gewebes durch die Erfindung keine Antikörperantwort oder Abstoßung erwartet werden, wohingegen durch die beabsichtigte chemische Modifizierung und Vernetzung des Produkts das autoimplantierte Produkt als relativ mehr permanentes Implantatmaterial als früher bekannte Produkte dienen wird.

Nichtsdestotrotz, basierend auf dieser spezifischen Unterscheidung von autologem Gewebe gegenüber der Verwendung bekannter heterologer Gewebe, erlaubt die Erfindung auch im breiten Sinn die Änderung des Zustands von in situ Gewebe eines menschlichen Spenders durch Autoimplantation, wobei eine autoimplantierbare oder reimplantierbare verarbeitete collagene Substanz verwendet wird, die von intaktem Gewebe des gleichen menschlichen Spenders alleine stammt.

Dies trifft zu, da ein herausragendes, unabhängiges Merkmal der Erfindung das Konzept der Autoimplantation eines collagenen Substanzprodukts in einen menschlichen Spender betrifft, das aus intaktem Gewebe des gleichen Spenders alleine stammt, womit potentielle Probleme vermieden werden, die mit Antigenizität, Abstoßung und dergleichen von heterologen Gewebetransplantaten verbunden sind.

Die Erfindung schafft somit Formen von verarbeitetem menschlichem von Collagen stammendem Gewebe, das als dauerhaftes, praktisches und relativ sicheres Autoimplantatprodukt dient, zum Beispiel wird seine Produktion zumeist gleichzeitig mit seiner Verwendung in einem chirurgischen Verfahren als Hornhaut, Haut,

Überzug, Verbindungsschicht oder ähnliches Implantat an der chirurgischen Stelle. Selbstverständlich werden alle solchen Verfahren unter sterilen, antiseptischen Bedingungen unter Verwendung steriler Materialien durchgeführt.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

Andere Aufgaben dieser Erfindung werden von der Beschreibung und den begleitenden Zeichnungen offensichtlich, in denen:

- Fig. 1 eine schematische Darstellung einer Formvorrichtung ist, die zur Durchführung des Wiederformens der Hornhaut des Auges des menschlichen Spenders mit einem Autoimplantat verwendbar ist, das gemäß einer Ausführungsform der Erfindung in situ vernetzt ist, und
- Fig. 2 eine Schnittdarstellung der Vorrichtung entlang der Linie 2-2 der Fig. 1 ist.

BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN

Gemäß einem Aspekt der Erfindung wird ein Verfahren bereitgestellt zum Herstellen einer chemisch modifizierten, vernetzbaren, telopeptidhaltigen, natürlich vernetzten, solubilisierten, collagenen Substanz, die direkt aus intaktem menschlichem Gewebe von einem einzigen menschlichen Spender erhalten ist, zum Implantieren in den gleichen Spender.

Das Verfahren umfaßt wünschenswerterweise das Entfernen von vorhandenen, nicht collagenen Proteinverunreinigungen aus telopeptidcollagenhaltigem intaktem Gewebe, das aus einem einzigen menschlichen Spender erhalten wurde, um im wesentlichen gereinigtes telopeptidcollagenhaltiges Gewebematerial zu bilden, und Extrahieren und chemisch Modifizieren des gereinigten Telopeptidcollagens, um eine autoimplantierbare, vernetzbare Substanz zu bilden.

Die Verunreinigungen können durch Inkontaktbringen des Gewebes mit einer im wesentlichen neutralen Flüssigkeit entfernt werden, die zum Solubilisieren der Verunreinigungen ohne Solubilisieren des Collagens fähig ist, oder durch Verwenden spezifischer Enzyme, um nicht collagene Gewebekomponenten zu solubilisieren. Das verunreinigungsfreie Telopeptidcollagen wird dann extrahiert

und durch Umsetzen des Gewebes direkt mit einem chemischen Modifizierungsmittel chemisch modifiziert.

In einer Ausführungsform ist das chemische Modifizierungsmittel ein aminreaktives, insbesondere acylierendes, Mittel, und die Umsetzung wird in einem solubilisierenden wäßrigen Medium von im wesentlichen neutralem bis basischem pH ausgeführt, der ausreichend ist, um zumindest teilweise das Telozeptidcollagen in dem wäßrigen Medium zu solubilisieren, wobei das zumindest teilweise solubilisierte Collagen danach gewonnen und gereinigt wird, um die autoimplantierbare, telopeptidhaltige, collagene Substanz als Produkt zu bilden.

In einer anderen Ausführungsform ist das chemische Modifizierungsmittel ein carbonsäurereaktives, insbesondere veresterndes, Mittel, und die Umsetzung wird in einem solubilisierenden, nicht wäßrigen organischen Medium bei saurem pH durchgeführt, der ausreichend ist, um zumindest teilweise das Telozeptidcollagen darin zu solubilisieren, wobei das zumindest teilweise solubilisierte Collagen danach gewonnen und gereinigt wird, um die autoimplantierbare, telopeptidhaltige, collagene Substanz als Produkt zu bilden.

Alternativ kann das chemische Modifizieren sowohl die Aminacylierung- und Carbonsäureveresterungsschritte umfassen.

Das solubilisierte chemisch modifizierte Produkt umfaßt eine Hauptkette von telopeptidhaltigem Collagen, das von menschlichem Gewebe stammt, mit acylierten Amingruppen und/oder veresterten Carboxylgruppen. Insbesondere umfaßt es Triple-Helix-Stränge von telopeptidhaltigem Collagen, das von menschlichem Gewebe stammt, das von einem einzigen Spender erhalten ist, das Polypeptidhauptketten umfaßt, die daran durch chemische Modifikation von mindestens einer (a) acylierten Amingruppe und (b) veresterten Carboxylgruppe angehängt hat.

Für die vorläufige Entfernung der nicht collagenen Proteinverunreinigungen können Gewebekomogenate hergestellt werden durch Mischen des Gewebes in einer Gewebemühle bei einer Temperatur von höchstens etwa Raumtemperatur, ausreichend um das Gewebematerial zu zerkleinern, zu pulverisieren und zu zerreißen, zum Beispiel in Kontakt mit einer wäßrigen Salzlösung von physiologischem pH, wie 0,9 % NaCl mit neutralem pH, wobei danach die flüssige Phase, die die solubilisierten Verunreinigungen enthält,

vom pulverisierten Gewebematerial, das noch die Telozeptidcollagenbestandteile als feste Phase oder Gewebepulver enthält, abgetrennt werden.

Das Homogenat enthält im allgemeinen etwa 70 % Trockengewicht Collagen und den Rest an Abriebteilchen und anderen Bestandteilen in der wäßrigen Lösung.

Vorzugsweise wird das Mischen oder Homogenisieren des Gewebes durch Pulverisieren des Gewebes in einem gefrorenen Zustand durch Cryopulverisierungstechniken durchgeführt, wie durch Einfrieren des Gewebes in flüssigem Stickstoff und Mahlen des gefrorenen Gewebes unter Verwendung eines Mörsers und eines Reibers oder mittels einer Cryopulverisierungsmühle, wodurch die Solubilisierung der Verunreinigungen erhöht und die Zeit für den Gesamtprozeß reduziert wird.

Vorzugsweise beabsichtigt das Verfahren auch das Entfernen vorhandener Lipidbestandteile vom collagenhaltigen Gewebe vor dem chemischen Modifizierungsschritt und verwendet organische Lösungsmittel, um die Niveaus der Biobelastung zu reduzieren, die dem Gewebe inherent sind, um die Reduktion jeder Biobelastung vom Gewebe zu unterstützen. Beispielsweise kann der Lipidentfernungsschritt nach dem Schritt des Entferns von vorhandenen, nicht collagenen Proteinverunreinigungen vom Gewebe bewirkt werden, um im wesentlichen nicht collagene Proteine verunreinigungsfrei sowie im wesentlichen lipidfreies, telozeptidcollagenhaltiges, menschliches Gewebematerial für den nachfolgenden chemischen Modifizierungsschritt zu bilden:

Der Lipidentfernungsschritt wird somit bei den Anfangsstufen des Verarbeitens des menschlichen Gewebes durchgeführt und kann die übliche Behandlung des Gewebes umfassen, zum Beispiel nach Zerkleinern oder Pulverisieren mit einem fettauflösenden oder lipophilen, organischen Lösungsmittelsystem. Die feste Phase oder das Gewebepulver wird mit zum Beispiel einem organischen Lösungsmittel, wie Ethanol oder Isopropanol, oder mit Aceton gemischt, und vorzugsweise mit 20 Volumen Ethanol (95 bis 98 %), um die Lipidkomponenten und jedes andere mit einem organischen Lösungsmittel extrahierbaren Material vom collagenen Material zu extrahieren. Das extrahierte Pulver wird durch Zentrifugation gewonnen und gewaschen, zum Beispiel 3 Mal mit 20 Volumen deionisiertem Wasser oder einem anderen geeigneten wäßrigen Medium.

Die Solubilisierung des telopeptidhaltigen Collagens wird bei jeder Reaktionstemperatur zwischen etwa 0°C bis 45°C auftreten, aber es wird vorzugsweise bei etwa 20°C bis 37°C, und insbesondere bei Raumtemperatur (etwa 25°C), wegen der Bequemlichkeit und der vollständigen Solubilisierung, falls gewünscht, in einer vernünftig kurzen Zeit bewirkt. Für die Aminmodifizierungsreaktion wird das nicht collagene, proteinverunreinigungsfreie und lipidfreie, extrahierte Gewebepulver in einem wäßrigen Medium resuspendiert. Die Suspension kann in jedem geeigneten wäßrigen Medium, wie Wasser, deionisiertem Wasser, abgeglichener Salzlösung, Salzlösung, und so weiter, vorzugsweise 0,9 % isotonische Salzlösung, sein.

Obwohl die Aminmodifizierungsreaktion bei einem pH von 7 bis 11 von Statten gehen wird, wird sie vorzugsweise bei mildem basischem pH durchgeführt, um die Reaktionsgeschwindigkeit zu erhöhen und die Verarbeitungsdauer zu reduzieren. Die Reaktion wird wünschenswerterweise bei etwa pH 8,0 bis 10,0, und insbesondere bei etwa pH 8,5 bis 9,0, durchgeführt.

Das aminreaktive Modifizierungsmittel, das als Solubilisierungsmittel verwendet wird, kann ein Acylierungsmittel sein, wie ein Carbonsäureanhydrid, wie Bernsteinsäureanhydrid, Glutarsäureanhydrid, Benzoessäureanhydrid, 1,2,4,5-Benzoltetracarbonsäuredianhydrid; Carbonsäureester, zum Beispiel Monophenylterephthalat, Ethylbenzoat, alpha-Naphthalincarbonsäureethylester; Carbonsäurehalogenide, zum Beispiel Bernsteinsäurechlorid; Sulfonsäure, zum Beispiel 1,3-Benzoldisulfonsäure, Anilin-2-sulfonsäure, 3-Nitrobenzolsulfonsäure, 2-Formylbenzolsulfonsäure, 4-Aminonaphthalinsulfonsäure; oder Sulfonsäurehalogenide, zum Beispiel 4,4'-Biphenyldisulfonylchlorid, Benzolsulfonylchlorid; und Gemische davon.

Im allgemeinen kann das Acylierungsmittel ein aliphatisches oder aromatisches, mono-, di- oder höherfunktionelles Carbonsäureanhydrid, -ester oder -halogenid, oder Sulfonsäure oder -halogenid sein, wie ein Niederalkanoic-, Niederalkandioic- oder höherfunktionelles Niederalkancarboxylic- oder Arylmono-, Di- oder höherfunktionelles Carboxylic- (zum Beispiel Benzoic oder Naphthoic) -säureanhydrid, -Ester oder -Halogenid, oder Niederalkyl- oder Aryl- (zum Beispiel Phenyl oder Naphthyl), mono-, di- oder höherfunktionelle Sulfonsäure oder -halogenid, um den ent-

sprechenden Acyl- (Carbonyl- oder Sulfonyl-) -Rest an der Amin-
gruppe zu bilden, zum Beispiel Niederalkenyl, Aroyl (zum Beispiel
Phenoyl oder Naphthoyl), Alkylsulfonyl oder Aryl (zum Beispiel
Phenyl oder Naphthyl), Sulfonyl, substituiertes Amino (Amido oder
Sulfonamido).

Das Acylierungsmittel kann direkt zugegeben werden als
festes Material, zum Beispiel Pulver, oder aufgelöst in einem
geeigneten organischen Lösungsmittel, wie Aceton, N,N-Dimethyl-
formamid (DMF), Ethanol, oder Methylpyrrolidon.

Die gesamte Menge von zugegebenen Acylierungsmitteln
hängt vom Ausmaß der Zerstörung, Modifizieren und Extrahieren des
telozeptidhaltigen Collagens, das gewünscht ist, ab. Zum Beispiel
kann eine Zugabe von 150 mg Mittel pro Gramm nassem Gewebe nicht
ausreichend sein, um den Collagengehalt des Gewebes vollständig zu
dispergieren und zu solubilisieren, so daß so viel wie vier sol-
cher Zugaben erforderlich sein können.

Die erforderte Menge sollte im allgemeinen das Gewichts-
verhältnis von Acylierungsmittel zu nassem Gewebe von im weiten Be-
reich 0,005 bis 0,05 : 1 und vorzugsweise 0,05 bis 0,1 : 1 ge-
nügen.

Die Reaktionszeit zur Erzielung einer vollständigen
Solubilisierung des collagen Gewebes kann im Bereich von etwa
30 Minuten bis 2 Stunden liegen. Die Zeit hängt ab von der Menge
des Solubilisierungsmittels, dem spezifisch verwendeten Solubili-
sierungsmittel, der Geschwindigkeit des Schüttelns oder Rührens,
der Temperatur, dem pH-Wert und dem Grad, zu dem das Gewebe an-
fänglich in der vorherigen Homogenisierungsbehandlung pulverisiert
oder dispergiert wurde.

Für die Carbonsäuremodifizierungsreaktion wird das nicht
collagene, proteinverunreinigungs freie und lipidfrei extrahierte
Gewebepulver wünschenswerterweise getrocknet, zum Beispiel im
Vakuum oder Gefriertrocknen, und mit einem carbonsäurereaktivem
Veresterungsmittel in einem nicht wäßrigen, organischen Medium bei
saurem pH, vorzugsweise nicht mehr als etwa pH 3,2, wie etwa pH
0,1 bis 3,2, vereinigt.

Die benötigte Menge sollte im allgemeinen das Gewichts-
verhältnis von Veresterungsmittel zu trockenem Gewebe von in
weitem Bereich von 1 bis 30 : 1, vorzugsweise 1 bis 20 : 1, und
besonders bevorzugt 5 bis 20 : 1, genügen.

Insbesondere ist das Medium vorteilhafterweise ein großer Überschuß des Veresterungsmittels in der Form einer angesäuerten Flüssigkeit, wie einem angesäuerten Alkohol, insbesondere einem aliphatischen Alkohol, wie ein wasserlöslicher niederer Alkohol, zum Beispiel Methanol und Ethanol. Die Veresterungsreaktion, die den Ester und Wasser bildet, wird durch Verwendung eines Überschusses an Alkohol begünstigt, um die effiziente Bildung des Esterprodukts sicherzustellen, in Gegenwart einer katalytischen Menge einer Säure, wie 0,1 N HCl als Acidifizierungsmittel, zum Beispiel durch Bereitstellen eines System-pH-Werts von etwa 0,1 bis 3,2.

Die Reaktion wird wünschenswerterweise unter wasserfreien Bedingungen unter Verwendung dehydrierter Ausgangsmaterialien für optimale Ergebnisse bewirkt, obwohl akzeptierbare Ergebnisse auch noch mit Ausgangsmaterialien erhaltbar sind, die nicht dehydriert wurden, zum Beispiel unter Verwendung von nassem Gewebepulver.

Im allgemeinen kann das Veresterungsmittel ein aliphatischer oder aromatischer Alkohol sein, wie ein niederer Alkohol oder ein Arylalkohol (zum Beispiel Phenol oder Naphthol), um den entsprechenden aliphatischen oder aromatischen Ester, zum Beispiel Alkyl oder Aryl (zum Beispiel Phenyl oder Naphthyl), zu bilden.

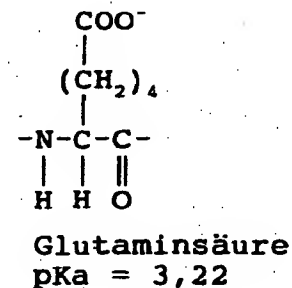
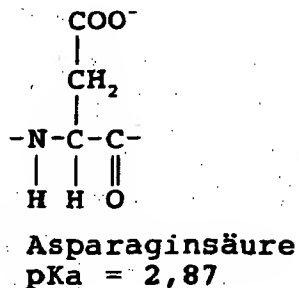
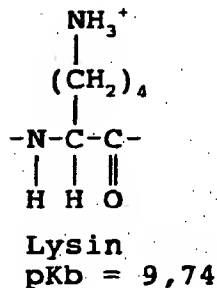
Wo das Veresterungsmittel ein Feststoff bei Raumtemperatur ist, kann es in einem geeigneten, nicht wäßrigen, organischen Lösungsmittel aufgelöst werden, wie Aceton, N,N-Dimethylformamid (DMF), Ethanol oder Methylpyrrolidon, als organischem Medium.

Die Veresterungsreaktion wird bei der gleichen Temperatur und über die gleiche Reaktionszeit, wie die Acylierungsreaktion, wegen der gleichen Gründe, durchgeführt, aber da das Veresterungsmittel vorteilhafterweise in einem großen Überschuß als nicht wäßriges, organisches Reaktionsmedium verwendet wird, wird die Menge des Veresterungsmittels vorzugsweise mehrere Male größer als die des trockenen Ausgangsgewebes sein, zum Beispiel in einem Gewichtsverhältnis davon von 2 bis 20 : 1, obwohl das Verhältnis 1 bis 30 : 1, und vorzugsweise 1 bis 20 : 1, im allgemeinen sein kann, insbesondere wo das Veresterungsmittel ein Feststoff ist und ein organisches Lösungsmittel als Reaktionsmedium verwendet wird.

Wo das Gewebepulver bereits durch die Aminmodifizierungsreaktion solubilisiert wurde, kann das gewonnene und gerei-

nigte acylierte Produkt getrocknet werden, zum Beispiel im Vakuum oder durch Gefriertrocknen, und dann mit dem angesäuerten Veresterungsmittel vereinigt und umgesetzt werden, um das entsprechende acylierte und veresterte Produkt herzustellen. Alternativ kann das Gewebe zuerst dem Veresterungsschritt unterzogen werden, und das veresterte solubilisierete Produkt dann dem Acylierungsschritt unterzogen werden.

Der Reaktionsmechanismus für die Solubilisierung des Collagens erfordert eine freie aminreaktive Gruppe (NH_3^+) für den Acylierungsschritt oder eine freie carboxylreaktive Gruppe (COO^-) für den Veresterungsschritt. Typischerweise befinden sich solche freien reaktiven Gruppen in der tertiären Position oder an der terminalen Position (der Seitenkette) der Polypeptidstruktur. Die zwei primären reaktiven Gruppen an Collagenmolekülen sind (i) die epsilon-Aminogruppe am Lysin und (ii) die Carboxylgruppen an der Asparaginsäure und Glutaminsäure:



Beispielsweise wird die NH_3^+ -polare Gruppe (kationisch) mit Anhydriden, Säurehalogeniden, Sulfonylhalogeniden und aktiven Estern, wie Monophenylterephthalat, reagieren. Diese Mittel werden die Ladung an der Aminogruppe des Lysins von positiv (+) zu negativ (-) ändern, und die resultierende collagene Struktur wird bei neutralem pH löslicher sein.

Analoge Änderungen von negativ (-) zu positiv (+) treten bei der Veresterung der Asparagin- und Glutaminsäure- COO^- -polaren Gruppe (anionisch) mit Alkoholen auf.

Die Reaktion kann durchgeführt werden bis das Collagen im wesentlichen im Medium vollständig solubilisiert ist, und das solubilisierete Collagen gewonnen, gereinigt und mit der wässrigen Flüssigkeit vereinigt wird, um eine Telopeptidcollagenlösung als Produkt zu bilden.

Im Fall der Acylierungsreaktion in wäßrigem Medium bei neutralem bis basischem pH kann das solubilisierete telopeptidhaltige Collagen durch Acidifizieren des Reaktionsmediums auf einem pH von 3,5 bis 5,0, und vorzugsweise 4,0 bis 4,5, unlöslich gemacht werden. Das Präzipitat kann dann gewonnen werden.

Im Fall der Veresterungsreaktion in einem nicht wäßrigen organischen Medium bei saurem pH kann das solubilisierete, telopeptidhaltige Collagen gewonnen werden durch Trocknen, zum Beispiel im Vakuum oder durch Mischen der angesäuerten, alkoholischen Lösung mit Ethylester (zum Beispiel in einem 1 : 1 Volumenverhältnis) und dann Extrahieren des Collagens vom organischen Gemisch mit Wasser.

Für spezielle ophthalmische Anwendungen ist es bevorzugt, daß das Modifizierungsmittel zum Modifizieren des Collagens fähig ist, um ein solubilisieretes Collagen mit einem hohen Brechungsindex zu schaffen. Dies ist am wirksamen zum Korrigieren des Sehvermögens. Das solubilisierete Collagen wird gewonnen, gereinigt und mit einer wäßrigen Flüssigkeit vereinigt, um eine Telopeptidcollagenlösung mit ausgewähltem Brechungsindex zum Korrigieren des Sehvermögens als Produkt zu bilden.

Das Mittel, das verwendet wird, um einen solchen ausgewählten Brechungsindex (n_D) zu erreichen, ist geeigneterweise ein aminmodifizierendes Acylierungsmittel, das zur Erreichung einer vollständigen Solubilisierung des Collagens fähig ist, um ein Produkt bereitzustellen, das im wesentlichen vollständig bei physiologischen pH-Bedingungen löslich ist, wie Anylin-2-sulfonsäure ($n_D = 1,586$), 3-Nitrobenzolsulfonsäure ($n_D = 1,550$), 2-Formylbenzolsulfonsäure ($n_D = 1,544$), 1,3-Benzoldisulfonsäure, 1,2,4,5-Benzoltetracarbonsäuredianhydrid oder ähnlichen Reagenzien, deren besondere, einen Teil bildende reaktive Gruppen oder funktionelle Gruppen einen hohen Brechungsindex zeigen oder einen resultierenden hohen Brechungsindex der so modifizierten collagenen Substanz verleihen.

Somit werden solche Mittel im allgemeinen einen Brechungsindex von mindestens etwa n_D 1,500, wie einen Brechungsindex von etwa n_D 1,500 bis etwa n_D 1,600, besitzen.

Alternativ kann die Reaktion durchgeführt werden, bis das Collagen nur teilweise solubilisiert ist, um ein Gemisch von relativ langen faserigen Partikeln und suspendierbaren feinen

faserigen Partikeln von unsolubilisierten Telozeptidcollagen in einer homogenen, zum Beispiel gallertartigen, Masse von solubiliisiertem Telozeptidcollagen zu schaffen, und die suspendierbaren feinen Teilchen und das solubiliisierte Collagen, das gewonnen, gereinigt und mit einer wäßrigen Flüssigkeit vereinigt wird, bilden eine faserige Telozeptidcollagensuspension als Produkt.

Das Produkt kann in jedem Fall in eine injizierbare, fließbare Masse, eine kittartige, streichbare Masse oder Füller, zum Beispiel aus einer filmbildenden Lösung oder Suspensionsproduktmaterial, oder fein unterteilte verteilbare, zum Beispiel trockenes Pulver, Teilchen geformt werden, und alle Formen des Produkts können vernetzt sein, das heißt vor und/oder nach Autoimplantation.

Vor der Implantation wird jede solcher Produktformen gegebenenfalls teilweise vernetzt, das heißt nicht ausreichend, um eine formerhaltende Masse zu bilden noch vor den injizierbaren und kittartigen Formen, ausreichend zur selektiven Viskositätserhöhung, und nach Implantation wird es gegebenenfalls in situ vernetzt oder im Fall einer Implantationsvorrichtung wird das Produkt vor Implantation vollständig vernetzt.

Das Vernetzen kann zum Beispiel thermisch, chemisch, mit einem Isocyanat oder Aldehyd, wie Clutaraldehyd, oder durch Bestrahlung mit gamma-Strahlen oder vorzugsweise ultravioletten Strahlen bewirkt werden. Üblicherweise wird das Vernetzen gleichzeitig mit oder nach Autoimplantation durch gleichzeitiges Injizieren, Bestreichen oder Verteilen eines chemischen Vernetzungsmittels mit dem Produkt an der Implantationsstelle oder durch Bestrahlung des Produkts mit ultraviolettem Licht in situ an der Implantationsstelle bewirkt werden.

Verständlicherweise ist die Verwendung von Hitze oder gamma-Bestrahlung weniger bevorzugt, da dies die Integrität des Collagens nachteilig beeinflussen kann, das heißt Hitze kann das Denaturieren des Collagens verursachen und gamma-Bestrahlung kann Abbau, exzessive Polymerisierung und/oder unnötiges Gilben des Collagens, abhängig von der Bestrahlungsdosis oder Intensität bewirken.

Falls gewünscht, können Materialien, wie Glycerol oder Glucose, die die Collagenfibrillenbildung verlangsamen, zu der

injizierbaren Collagenherstellung zugegeben werden, um das Collagen zu stabilisieren.

Die implantierten Produkte umfassen injizierbare, fließbare Massen als Glaskörperimplantate, von Teilchen stammenden zusammengesetzte Schichten oder Schwammimplantate und formerhaltende Überzüge und verbindende Schicht-Implantate als Fasern, Filme, Röhren, Linsen und ähnlichen Strukturen.

Insbesondere kann das Produkt in eine Masse von ausgewählter Form und Größe geformt werden, entsprechend einer wirksamen Implantatvorrichtung, und danach vernetzt werden, um eine solche Vorrichtung herzustellen.

Es wird erkannt werden, daß ophthalmische Autoimplantate im wesentlichen optisch klar sein müssen, wenn man ihren Zweck zur Korrektur des Sehvermögens betrachtet, während weiche Gewebeautoimplantate, zum Beispiel intradermale Implantate, im allgemeinen faserig oder partikulär sein müssen, um die erwünschte strukturelle Festigkeit zu schaffen.

Daher wird optisch klares Implantatmaterial durch vollständige Solubilisierung des Ausgangsgewebes hergestellt. Auf der anderen Seite erfordert faseriges oder partikuläres Implantatmaterial nur die teilweise Solubilisierung des Ausgangsgewebes, um das Ausgangsgewebe in eine physikalische Form des collagenen Substanzprodukts zu fragmentieren, die zur Injektion durch eine Nadel in geeigneter Größe, zum Beispiel eine Nadel mit Kaliber (gauge) 25 bis 30, fähig ist, ohne Nachteil für die Form der injizierbaren Masse oder Schwierigkeiten zur Erreichung einer geeigneten Flußabgabe zur Implantatstelle. Gewöhnlicherweise wird die partikuläre Form der collagenen Substanz auch etwas an solubilisierter Form enthalten.

Es wurde überraschenderweise gefunden, daß die Herstellung des solubilisierten, collagenen Materials mit hohem Brechungsindex erreichbar ist durch Verwendung eines Modifizierers als chemisches Modifizierungsmittel zum Beispiel eines Acylierungsmittels, mit einem höheren Brechungsindex als andererseits notwendig zur allgemeinen Erreichung einer vollständigen Solubilisierung der collagenen Substanz. Die Solubilisierung funktioniert spezifisch mit diesem Modifizierer mit hohem Brechungsindex oder Reagenz, um in der Herstellung einer klaren Präparation mit einem höheren Brechungsindex als einen auf andere Weise erhaltenen unter

Verwendung eines chemischen Modifizierungsmittels, zum Beispiel Acylierungsmittels, im allgemeinen zu resultieren.

Diese klare Präparation mit hohem Brechungsindex oder dieses collagene Substanzprodukt mit hohem Brechungsindex wird angesehen hervorragend wirksam verwendbar zu sein, um Brechungsfehler im Sehvermögen zu korrigieren, insbesondere im Hinblick auf die Tatsache, daß je höher der Brechungsindex ist, desto dünner muß der Film sein, um den Fehler zu korrigieren, und somit muß die Menge des Ausgangsgewebes niedriger sein, das vom menschlichen Spender erhalten wird.

Gemäß einem anderem Aspekt dieser Erfindung werden Verfahren zur Verwendung des Produkts zur Änderung des Zustands von in situ Gewebe des gleichen menschlichen Spenders durch Autoimplantation geschaffen.

Ein Verfahren umfaßt das Plazieren einer wirksamen Menge des Produkts, wie die vollständig solubilisierete Lösung oder die teilweise solubilisierete Suspension, zum Beispiel als injizierbare, fließbare Masse, oder geformt in eine kittartige streichbare Masse oder in fein unterteilte verteilbare Teilchen, an die in situ Gewebestelle des gleichen Spenders, wobei zum Beispiel das Produkt danach in situ vernetzt wird.

Ein anderes Verfahren umfaßt das Plazieren des bereits vernetzten Produkts als geformter Gegenstand oder Vorrichtung an die in situ Gewebestelle.

Ein besonderes Verfahren zur Verwendung des vollständig solubilisierten Produkts, insbesondere wenn es mit dem ausgewählten Brechungsindex hergestellt wurde, betrifft das Wiederformen der Hornhaut eines Auges des gleichen menschlichen Spenders zur Korrektur des Sehvermögens.

Das Verfahren umfaßt das Anwenden einer Form an die Oberfläche der Hornhaut des Auges, die wiedergeformt werden soll, wobei die Form eine konkave Oberfläche von ausgewählter Form und Größe aufweist, entsprechend einer wirksamen Form und Größe für die äußere Oberfläche der wiedergeformten Hornhaut zum Korrigieren des Sehvermögens des Auges, Injizieren einer wirksamen Menge des Produkts in die Hornhaut zwischen einem Paar von benachbarten Lamellen in der Region der äußeren Oberfläche der Hornhaut, um eine Masse zwischen den Lamellen zu bilden, wobei die äußere Oberfläche der Hornhaut auf und in Kontakt gegenüber mit der

konkaven Oberfläche der Form zu expandieren, Vernetzen der Masse in situ, um ein formerhaltendes Implantat zu erhalten, und danach Entfernen der Form.

Vorzugsweise wird ein Vakuum auf die Hornhaut während des Injizierens angewendet, um das Expandieren der äußeren Oberfläche der Hornhaut im Kontakt mit der konkaven Oberfläche der Form zu erleichtern. Das Vernetzen wird zum Beispiel durch Bestrahlen des äußeren vorderen Teils der Hornhaut mit Ultraviolett-(UV)-Strahlen bewirkt. Die Hornhaut wird auch wünschenswerterweise mit Stickstoff, Argon oder einem anderen Inertgas während des Vernetzens gespült, um Sauerstoff von der Bestrahlungsstelle zu entfernen.

Ein besonderes Verfahren zur Verwendung des Produkts als injizierbare, fließbare Masse betrifft das Wiederformen der Hautkontur des gleichen menschlichen Spenders zum im wesentlichen Eliminieren von Hautvertiefungsflächen. Das Verfahren umfaßt das Injizieren einer wirksamen Menge des gegebenenfalls teilweise vernetzten Produkts in die Haut an der Stelle der Hautvertiefungsfläche, die wiedergeformt werden soll, in die papillare Hautregion, um eine Masse im intradermalen Gewebe zu bilden, die die äußere Oberfläche der Haut zum Expandieren zum im wesentlichen Eliminieren der Vertiefungsflächen bringt, und Vernetzen der Masse in situ, um ein formerhaltendes Implantat herzustellen.

Ein besonderes Verfahren zur Verwendung des vollständig solubilisierten Produkts, insbesondere wo es mit dem ausgewählten Brechungsindex hergestellt ist, betrifft das Überziehen von in situ Gewebe eines Auges des gleichen menschlichen Spenders durch Bilden des Produkts in eine gegebenenfalls partiell vernetzte kittartige streichbare Masse, Ausstreuen einer wirksamen Menge der Masse als Überzug auf dem in situ Gewebe des Auges, zum Beispiel als dünner, enger Überzug über und in einen Schnitt als nahtmaterialfreien Gewebeverbinder, und Vernetzen des Überzugs in situ, um ein formerhaltendes Überzugsimplantat herzustellen.

Ein anderes besonderes Verfahren zur Verwendung des vollständig solubilisierten Produkts, insbesondere wo es mit dem ausgewählten Brechungsindex hergestellt wurde, betrifft das Ersetzen des Glaskörpers, der vom Glaskörperhohlraum eines Auges des gleichen menschlichen Spenders entfernt wurde, durch gegebenenfalls Vernetzen des Produkts, ausreichend um eine injizierbare,

fließbare Masse von gallertartiger Konsistenz entsprechend der des Glaskörpers zu schaffen, und Injizieren einer Ersatzmenge der vernetzen Masse in den Glaskörperhohlraum.

Ein weiteres Verfahren zum Verwenden des Produkts in Form einer kittartigen, streichbaren Masse betrifft das Überziehen in situ von Gewebe der Haut des gleichen menschlichen Spenders durch Aufstreichen einer wirksamen Menge des gegebenenfalls partiell vernetzten Produkts als einen Überzug auf das in situ Hautgewebe, zum Beispiel als dünner enger Überzug über und in einen Schnitt als nahtmaterialfreiem Gewebeverbinder, und Vernetzen des Überzugs in situ, um ein formerhaltendes Überzugsimplantat herzustellen.

Ein analoges Verfahren betrifft die Verwendung des Produkts in Form einer kittartigen, streichbaren Masse oder fein unterteilter verteilbarer Partikel zum Überziehen von in situ Gewebe an einer internen chirurgischen Stelle des gleichen menschlichen Spenders durch Aufstreichen einer wirksamen Menge der gegebenenfalls partiell vernetzten, streichbaren Masse als einen Überzug und/oder als verbindende Schicht, oder Verteilen einer wirksamen Menge der Partikel als zusammengesetzten Überzug und/oder zusammengesetzten Verbindungsschicht auf das in situ Gewebe an der internen chirurgischen Stelle, zum Beispiel über und in einen kleinen Schnitt in ein Randblutgefäß und Vernetzen des Überzugs in situ, um ein formerhaltendes Überzugsimplantat und/oder verbindendes Schichtimplantat herzustellen.

Ein weiteres besonderes Verfahren der Verwendung des vollständig solubilisierten Produkts, insbesondere wenn es mit dem ausgewählten Brechungsindex hergestellt wurde, betrifft das Wiedergeformen der Hornhaut eines Auges des gleichen menschlichen Spenders zur Korrektur des Sehvermögens durch Formen des Produkts in eine Masse von ausgewählter Form und Größe entsprechend einer wirksamen Implantatvorrichtung und Implantieren in die Hornhaut des Auges, die wiedergeformt werden soll zwischen einem Paar von benachbarten Lamellen in der Region der äußeren Oberfläche der Hornhaut, zum Bereitstellen einer wirksamen konvexen Form für die äußere Oberfläche der wiedergeformten Hornhaut zum Korrigieren des Sehvermögens des Auges, Vernetzen der Masse, um eine formerhaltende Implantatvorrichtung herzustellen, und Implantieren der Vorrichtung zwischen dem Paar der Lamellen.

Ein noch weiteres Verfahren zur Verwendung des vollständig solubilisierten Produkts, insbesondere wenn es mit dem ausgewählten Brechungsindex hergestellt wurde, betrifft das Bereitstellen einer intraocularen Implantatlinse für ein Auge des gleichen menschlichen Spenders durch Bilden des Produkts in einer Masse von ausgewählter Form und Größe entsprechend einer wirksamen intraocularen Implantatlinse für das Auge, Vernetzen der Masse und nach chirurgischem Entfernen der natürlichen Augenlinse vom Auge Implantieren der vernetzten intraocularen Implantatlinse in das Auge.

Ein verwandtes Verfahren zur Verwendung des vollständig solubilisierten Produkts, insbesondere wenn es mit dem ausgewählten Brechungsindex hergestellt wurde, betrifft das Bereitstellen einer Kontaktlinse für ein Auge des gleichen menschlichen Spenders durch Ausbilden des Produkts in einer Masse von ausgewählter Form und Größe entsprechend einer wirksamen Kontaktlinse für das Auge, Vernetzen der Masse, um eine formerhaltende Kontaktlinse herzustellen, und entfernbare Plazieren der Kontaktlinse im Kontakt mit dem Auge.

Ein noch weiteres Verfahren zur Verwendung des vollständig solubilisierten oder partiell solubilisierten Produkts betrifft das Überziehen in situ Gewebe an einer internen chirurgischen Stelle des gleichen menschlichen Spenders durch Bilden des Produkts in einer Masse von ausgewählter Form und Größe entsprechend einer wirksamen Implantatvorrichtung zum Überziehen und/oder Verbinden des in situ Gewebes an der internen chirurgischen Stelle, Vernetzen der Masse, um eine formerhaltende Implantatvorrichtung herzustellen, und Implantieren der Vorrichtung als Überzug und/oder verbindende Schicht im Kontakt mit dem Gewebe, zum Beispiel in der Form einer röhrenförmigen, formerhaltenden Vorrichtung, um scharfe Enden von Randblutgefäßen anzubinden und zu verbinden.

Betrachtet man die gesamten Aspekte dieser Erfindung, dann wird auch ein Verfahren zur Änderung des Zustands von in situ Gewebe eines menschlichen Spenders durch Autoimplantation ins Auge gefaßt, bei dem eine wirksame Menge einer autoimplantierbaren collagenen Substanz an der Stelle des in situ Gewebes des gleichen menschlichen Spenders plaziert wird, wobei die Substanz ein Produkt konstituiert, das durch das Verfahren des chemischen Modifi-

zierens von Collagen durch irgendwelche Mittel aus intaktem menschlichem Gewebe hergestellt ist, wobei das Gewebe von dem menschlichen Spender alleine erhalten wurde, ausreichend um zumindest teilweise das Collagen aus dem Gewebe zu solubilisieren, um die autoimplantierbare collagene Substanz als Produkt herzustellen, gegebenenfalls Vernetzen bevor es an der Stelle plaziert wird oder in eine formerhaltende Implantatvorrichtung von ausgewählter Gestalt und Größe geformt wird und dann an der Stelle als Vorrichtungsimplantat plaziert wird.

Bezugnehmend auf die Zeichnungen zeigen Fig. 1 bis 2 eine Form 1 mit einer konkaven Oberflächenformation 2 entsprechend einer vorbestimmten konvexen Form für die äußere Oberfläche 3 der wiedergeformten Hornhaut 4 des Auges des menschlichen Spenders, dessen Sehvermögen korrigiert werden soll. Formation 2 umfaßt ein zentrales durchlöchertes konkaves Oberflächenteil 5 aus einem ultraviolett-(UV)-strahlenpermeablen Kunststoff, wie Polymethylmethacrylat, das eine Vielzahl von durchgehenden Poren 6 aufweist, zum Beispiel als dünnes Sieb oder poröses Element und ein peripheres Abdichtrandteil 7 aus weichem biegsamen elastischen Material, wie Siliconkunststoff, zum Beispiel als Einfassung, abhängig vom Hauptkörper 8 der Form 1. Körper 8, ähnlich wie das durchlöcherte Teil 5, ist aus einem UV-strahlenpermeablen Kunststoff, wie Polymethylmethacrylat, hergestellt.

Form 1 wird auf die Hornhaut aufgebracht, so daß das durchlöcherte Teil 5 der äußeren Oberfläche 3 der Hornhaut gegenüber Licht, um einen Expansionsraum 9 zwischen der benachbarten durchlöcherten Oberfläche 10 und der äußeren Oberfläche 3 der Hornhaut, definiert, um so das Randteil 7 einer im wesentlichen luftdichten Dichtung mit der benachbarten äußeren Oberfläche 3 der Hornhaut, die den Expansionsraum 9 umgibt, bildet.

Körper 8 enthält ein Verteilerstück 11, dessen Fluß auswärts mit der Außenseite der Form 1 über eine zentrale Passage 12 und einwärts über die Poren 6 mit Raum 9 kommuniziert. Körper 8 enthält auch eine Serie von geeigneten im Kreisumfang beabstandeten peripheren Passagen 13, deren Fluß mit der peripheren Kreisleitung 14, die zwischen der Unterseite des Körpers 8 in der Nähe des Randteils 7 und der Fläche der äußeren Oberfläche 3 der Hornhaut, die den Expansionsraum 9 umgibt, mit dem Äußeren der Form 1 kommuniziert.

Nachdem der Chirurg die Form und das Volumen des gewünschten Hornhautimplantats bestimmt hat, das zur Korrektur des Sehvermögens des betroffenen Auges des Spenderpatienten verwendet werden soll, wird ein Schnitt 16 in die Hornhaut gemacht, um eine Tasche 17 von im allgemeinen kreisförmigen Profil zu bilden und sich im wesentlichen parallel zur Hornhautwand erstreckt, zwischen einem Paar von benachbarten Lamellen in der äußeren Oberfläche 3 der Hornhaut. Dann wird das Collagenlösungsprodukt in die Tasche 17 in einer wirksamen Menge injiziert, um eine Masse 18 zwischen den benachbarten Lamellen, entsprechend dem vorbestimmten Volumen des gewünschten Implantats, zu bilden.

Dies kann ausgeführt werden durch Einführen einer Injektionsnadel durch die zentrale Passage 12 durch eine geeignete selbstabdichtende perforierbare Membran 19, die am äußeren Teil der zentralen Passage 12 sich befindet, und im weiteren durch eine zentrale Pore 6a des durchlöcherten Teils 5, zum Schnitt 16 und zur Tasche 17. Wenn die Injektion stattfindet, wird die äußere Oberfläche 3 der Hornhaut dazu gebracht, zu und in einen gegenüberliegenden Kontakt mit der Formoberfläche zu expandieren.

Um die Erzielung der Expansion der äußeren Oberfläche 3 der Hornhaut in den Expansionsraum 9 und schließlich den vollen Kontakt zwischen der äußeren Oberfläche 3 der Hornhaut und der Formoberfläche 10 zu unterstützen, kann ein Vakuum an die Hornhaut 4 über die zentrale Passage 12, den Poren 6 und den Expansionsraum 9 von ausreichender Saugfestigkeit angewendet werden, um den äußeren Oberflächenbereich der Hornhaut, die sich in Kontakt mit der Formation 2 befindet, wenn die Injektion stattfindet, zu ziehen. Um einen Druckunterschied im Expansionsraum 9 zu schaffen, kann kompensierender atmosphärischer Luftdruck über die periphere Passage 13 zur Leitung 14 angewandt werden.

Danach wird die Masse 18 in situ durch Verwendung von UV-Strahlung von einer geeigneten Quelle S vernetzt, wie es in den gestrichelten Linien in Fig. 1 gezeigt wird, durch Form 1 und durchlöcherten Teil 5 zum äußeren vorderen Teil der Hornhaut 4, ausreichend, um die Umwandlung der Masse 18 in ein formerhaltendes Autoimplantat zu erreichen. Um die Evakuierung von Sauerstoff in der Luft von der Bestrahlungsseite während der Bestrahlung zu unterstützen, kann Stickstoff, Argon oder ein anderes Inertgas über die zentrale Passage 12 zur Verteilung über das Verteiler-

stück 11 und die Poren 6 zum Expansionsraum 9 zur Spülung der äußeren Oberfläche 3 der Hornhaut eingeführt werden, so daß der Gasfluß von zum Beispiel Stickstoff über Leitung 14 und periphere Passagen 13 austritt.

Alternativ kann das Autoimplantat in ein geformtes Insert in analoger Art durch Bestimmen der gewünschten Form und Größe oder Volumen des Implantats, Formen des Collagenlösungsprodukts in eine Masse von entsprechender Gestalt in einer Form analog der in den Fig. 1 und 2 gezeigten und UV-Bestrahlen der Masse hergestellt werden, um ein formhaltendes Implantatinsert zu bilden, worauf das Insert über einen ähnlichen Schnitt und eine ähnliche Tasche in die Hornhaut des Auges des Spenders implantiert wird.

In ähnlicher Art kann die Hautkontur des Spenders zur Eliminierung von Hautvertiefungsflächen wiedergeformt werden durch Injizieren des Collagensuspensionsprodukts in einer wirksamen Menge, als Masse in die Haut an die Stelle der Hautvertiefungsflächen, die wiedergeformt werden sollen, in die papillare Hautregion wiedergeformt, um eine Masse im intradermalen Gewebe zu bilden, die das Expandieren der äußeren Oberfläche der Haut zum Eliminieren der Vertiefungen, wie Faltenlinien oder Narbengewebestrukturen, zu verursachen, und dann Vernetzen der Masse in situ wie im Fall des Hornhautimplantats. Alternativ kann die Masse in ein formhaltendes Autoimplantatinsert, wie vorstehend beschrieben, umgewandelt werden, und das Insert an der Hautvertiefungsflächenstelle über einen Schnitt, der eine interne chirurgische Stelle schafft, plaziert werden.

Andere Verfahren zur Verwendung des Produkts zur Änderung der Bedingungen des in situ Gewebes des gleichen menschlichen Spenders durch Autoimplantation werden analog bewirkt.

BEISPIELE

Die folgenden Beispiele dienen der Illustrierung und nicht der Beschränkung der vorliegenden Erfindung.

BEISPIEL 1 - Vollständige Solubilisierung von humanem Collagen

Menschliches Gewebe einer Hautbiopsie (oder menschliches Hautgewebe, das durch rekonstruktive Chirurgie oder dergleichen erhalten wurde) des Spenderpatienten wird sofort eingefroren.

Proben des gefrorenen Gewebes werden präpariert, um vorhandene epidermale und subkutane Schichten zu entfernen, und die verbleibende Hautschicht wird geschnitten.

(a) Die geschnittene gefrorene dermale Schicht wird physikalisch gründlich in einer physiologischen Salzlösung (0,9 % NaCl in sterilem Wasser) als physiologisches Lösungsmittel durch Homogenisieren in einem Gewebehomogenisator (übliche Polytron- oder Tekmar-Gewebemühle) während etwa 30 Sekunden bei Raumtemperatur (25°C) pulverisiert, ausreichend, um eine gründlich pulverisierte, weiße, faserige, kohäsive Masse von unlöslichem, hochvernetztem, nativem, telopeptidhaltigem, collagenem Gewebe als feste Phase herzustellen. Nicht collagene Bestandteile werden im physiologischen Lösungsmittel aufgelöst. Alternativ kann das Pulverisieren durch übliche Cryopulverisierungstechniken durchgeführt werden.

Die feste Phase wird dann durch Abpipettieren der Flüssigkeit getrennt. Homogenisierung (oder Cryopulverisieren) der faserigen, kohäsiven Masse wird 6 bis 10 Mal wiederholt, jede für eine ähnliche Zeitspanne, bis die Lösung klar ist und die faserige Masse rein weiß und glitzernd ist mit nachfolgender Trennung von der physiologischen Lösungsmittelphase jedes Mal.

Dieses gereinigte Material wird schließlich von der vorhandenen Flüssigkeit getrennt und dann weiter gründlich durch Cryopulverisierung in der Gewebemühle (oder alternativ durch Mahlen in flüssigem Stickstoff unter Verwendung von Mörser und Stößel) für eine zusätzliche Zeitspanne von etwa 30 Sekunden pulverisiert. Die resultierende pulverisierte Masse wird als Gewebepulver der nun nicht collagenen, proteinverunreinigungsfreien, unlöslich faserigen, hochvernetzten, nativen, telopeptidhaltigen, collagenen Substanz gewonnen.

(b) Um Lipidverunreinigungen zu entfernen, wird das Gewebepulver mit 20 Volumen von 95 bis 98 %igem Ethanol gemischt, das resultierende, mit organischem Lösungsmittel extrahierte Pulver wird durch Zentrifugation gewonnen, und das restliche Ethanol durch Vakuumtrocknen entfernt. Alternativ wird das restliche Ethanol durch dreimaliges Waschen mit 20 Volumen demineralisiertem Wasser entfernt.

Das resultierende ethanolfreie Gewebepulver wird dann in 20 bis 30 Mal seinem Volumen physiologischer wässriger 0,9 M NaCl

Lösung (oder gepufferter Salzlösung) plaziert, um eine wäßrige, flüssige Suspension zu bilden.

Alle vorstehenden Verfahren werden in einem Klasse-100-Abzug mit laminarem Fluß durchgeführt, um Verunreinigungen zu verhindern.

(c) Die Suspension wird auf moderatem basischem pH, das heißt pH 8,5, durch Zugabe von 1-4 N NaOH eingestellt und dann bei Raumtemperatur (25°C) für etwa 30 Minuten mit Bernsteinsäureanhydrid als aminreaktives Modifizierungsmittel umgesetzt, das langsam in Portionen unter Rühren zur Suspension zugegeben wird. Der pH wird kontinuierlich bei 8,5 durch Zugabe weiterer NaOH, wie es nötig ist, gehalten. Wenn die Reaktion fortschreitet, wird die faserige, collagene Substanz chemisch modifiziert, und die Suspension wird klar und viskos wegen der Solubilisierung des Collagens. Die Reaktion wird durch Erhöhung des pH auf 12,0 mit 5N NaOH beendet.

Das vollständig solubilisierete Material in der wäßrigen Flüssigkeit ist ein transparentes, viskoses, telopeptidhaltiges Collagen-"Lösungs"-Produkt verwendbar, zum Beispiel als ophthalmisches Autoimplantatmaterial. Die Reaktion kann an jedem Punkt gestoppt werden, um den Grad der chemischen Modifikation und Solubilisierung der collagenen Substanz zu beschränken.

Das solubilisierete Produkt stellt chemisch modifiziertes, vernetzbares, telopeptidhaltiges, natürlich vernetztes Collagen dar, indem die individuellen helikalen Stränge der Triple-Helix-Moleküle in verbundener helikaler Anordnung nebeneinander entlang der entsprechenden Collagenpolypeptid-Hauptkette erhalten sind, wobei die terminalen Aminogruppen enthaltenden Stellen jedes gegebenen Strangs noch mit ihren benachbarten, nicht helikalen Telopeptidendresten verbunden sind und wobei die terminale Carbonsäuregruppen enthaltenden Stellen des gleichen Strangs noch an ihre benachbarten nicht helikalen Telopeptidendreste verbunden sind.

Somit bleiben alle drei helikalen Stränge eines Tropocollagenmoleküls an ihren Enden zu ihren entsprechenden Telopeptidresten verbunden, Telopeptidreste bleiben zu benachbarten Tropocollagenmolekülen vernetzt und benachbarte helikale Stränge bleiben zu jedem anderen entlang ihrer zentralen Regionen und zu Telopeptidregionen von benachbarten Tropocollagenmolekülen ver-

netzt, um die ursprüngliche Polypeptidhauptkettenanordnung und etwas der Ordnung der ursprünglichen intermolekularen Konfiguration beizubehalten. Diese Stränge enthalten jedoch nun acylierte (succinylierte) Aminogruppen, die das Collagen bei neutralem bis basischem pH löslich machen, während die Integrität der intermolekularen Anordnung erhalten bleibt.

Es soll verstanden werden, daß diese individuell chemisch modifizierten Tropocollagenmoleküle als Konsequenz ihrer Solubilisierung nicht länger in einer gestaffelten Anordnung in Fibrillen oder Faserbündeln, wie im Ausgangsgewebe, gepackt sind, sondern eher im wesentlichen intakte separate Einheiten konstituieren, die vollständig im Reaktionsmedium gelöst sind, wo eine vollständige Solubilisierung durchgeführt wird. Wenn eine teilweise Solubilisierung durchgeführt wird, dann enthält die Suspension ein Gemisch von intakten, separaten Einheiten und verschiedene Grade von Fasereinheiten, die in Abhängigkeit vom Ausmaß der Solubilisierung eingeteilt sind, die als feines Partikelmaterial im Reaktionsmedium suspendiert oder dispergiert sind.

Vergleichbare Ergebnisse sind unter Verwendung von Glutaranhydrid, Monophenylterephthalat, Ethylbenzoat, alpha-Naphthalinsäureethylester, Bernsteinsäure, Chlorid, 4-Aminonaphthalinsulfonsäure, 4,4'-Biphenyldisulfonylchlorid oder Benzolsulfonylchlorid als chemische Modifizierungsmittel erhältlich.

(d) Nachdem die Reaktion gestoppt ist, wird die vollständig solubilisierete, collagene Substanz durch Präzipitation mittels Reduzieren des pH-Werts des wäßrigen, flüssigen Reaktionsgemisches auf etwa 4,3 mit 1N HCl gewonnen. Das Präzipitat wird durch drei- bis fünfmaliges Waschen mit sterilem, angesäuertem Wasser mit einem pH von 4,3 gereinigt, um unreaktierte Modifizierungsbestandteile zu entfernen, und dann in wäßriger, gepufferter, physiologischer, neutraler Salzlösung (0,9 M NaCl) von neutralem pH aufgelöst, um ein transparentes, dickes, flüssiges Collagenlösungsprodukt zu bilden.

(e) Dieses Lösungsprodukt kann als Hornhautautoimplantat injiziert werden, und in situ durch UV-Bestrahlung vernetzt werden. Alternativ kann es in einer Masse von Form und Größe entsprechend einem Hornhautautoimplantat geformt und vernetzt werden, um einen dünnen, biegsamen, transparenten Film für Hornhautautoimplantation zu bilden.

BEISPIEL 2 - Teilweise Solubilisierung von humanem Collagen

Das Verfahren von Beispiel 1, Teil (c), wird wiederholt, mit der Ausnahme, daß die Reaktion gestoppt wird, nachdem die collagene Substanz nur teilweise solubilisiert ist. Das Produkt ist eine trübe, viskose Suspension einer teilweise solubilisierten und teilweise unsolubilisierten, collagenen Substanz im wäßrigen, flüssigen Reaktionsgemisch. Es ist unlöslich in wäßriger, physiologischer Salzlösung und konstituiert den gleichen Typ an telopeptidhaltigem, vernetzbarem Produkt, wie es in Beispiel 1, Teil (c), beschrieben ist.

Unumgesetzte chemische Modifiziererbestandteile werden durch Waschen mit neutraler, gepufferter, wäßriger Lösung entfernt. Ein Präzipitat wird gebildet, gewonnen durch Zentrifugation, und mit neutraler, gepufferter, physiologischer Salzlösung gemischt, um eine Collagensuspension zu bilden, die eine im wesentlichen homogene Lösung darstellt, die suspendiertes Material mit acylierten Amingruppen (2 bis 10 % Collagen) enthält.

Das Suspensionsprodukt wird durch eine Nadel vom Kaliber (gauge) 27 passiert, und es bildet ein weißes Präzipitat, wenn es in die physiologische Pufferlösung injiziert wird.

Das Suspensionsprodukt wird als Hautautoimplantat injiziert, um Hautvertiefungsflächen, das heißt Faltenlinien, zu eliminieren, und in situ durch UV-Bestrahlung vernetzt. Das Produkt wird alternativ in eine Masse von Form und Größe geformt, die einer Hautvertiefung entspricht, vernetzt, um eine formerhaltende Implantatvorrichtung als dünner, biegsamer Film zu bilden, und in die Haut autoimplantiert.

BEISPIEL 3 - Brechungsindex - modifiziertes Collagen

Das Verfahren von Beispiel 1 wird wiederholt mit der Ausnahme, daß die Reaktion mit Anilin-2-sulfonsäure als aminreaktives chemisches Modifizierungsmittel oder durch sequentielle Umsetzung mit Anilin-2-sulfonsäure gefolgt von Bernsteinsäureanhydrid durchgeführt wird, um die vollständig solubilisierete, telopeptidhaltige collagene Substanz in der Form einer klaren und transparenten flüssigen Collagenlösung bereitzustellen. Dieses Produkt stellt aus dem gleichen Typ an telopeptidhaltigem, vernetzbarem Produkt wie in Beispiel 1, Teil (c), beschrieben dar, aber es weist einen ausgewählten, spezifischen, hohen Brechungsindex auf. Es kann wie

in Beispiel 1 als Hornhautautoimplantatmaterial zur Korrektur des Sehvermögens verwendet werden (Brechungsindex n_D von Anilin-2-sulfonsäure = 1,586).

Vergleichbare Ergebnisse werden unter Verwendung von 3-Nitrobenzolsulfonsäure (n_D = 1,550), 2-Formylbenzolsulfonsäure (n_D = 1,544), 1,2,4,5-Benzoltetracarbonsäuredianhydrid und 1,3-Benzoldisulfonsäure als aminreaktive, chemische Modifizierungsmittel, die einen hohen Brechungsindex verleihen, erhalten.

BEISPIEL 4 - Vollständige Solubilisierung von humanem Collagen

(a) Ein Stück der menschlichen Haut, etwa 1 cm x 1 cm, wurde von einer Probe von menschlichem Gewebe präpariert, das von einem erwachsenen Spender während rekonstruktiver Chirurgie erhalten wurde. Das ungetrocknete Stück wog etwa 1,25 g und wurde in schmale Streifen unter Verwendung eines Skalpells geschnitten und in 20 ml einer wässrigen 0,9 %igen NaCl-Lösung plaziert. Das Gewebe wurde dann bei Raumtemperatur (25°C) in einer Mühle (Technical Instruments MicroMill) homogenisiert.

Die Homogenisierung wurde in zwei getrennten Aliquots durchgeführt. Mahlen während 30 Sekunden wurde zehn Mal für jedes Aliquot wiederholt. Nach jedem 30-sekündigem Mahlen wurde die Mühle geöffnet, die Flüssigkeit mit einer 10 cm³ Pipette entfernt und ein gleiches Volumen einer frischen wässrigen 0,9 %igen NaCl-Lösung zugegeben. Dieses Verfahren erlaubt die Entfernung von nicht zugehörigen, nicht collagenen Proteinverunreinigungsflüssigkeiten und resultiert in der Bildung einer weißen, glitzernden, fadenziehenden Masse aus collagenem Gewebe. Diese Masse war kohäsiv und konnte in der Mühle nicht weiter homogenisiert werden. Die faserige Struktur wurde dann in kleine Stücke unter Verwendung einer chirurgischen Schere geschnitten.

(b) Um Lipidverunreinigungen zu entfernen, kann die resultierende Masse mit 20 Volumen 95 bis 98 %igem Ethanol gemischt werden, die resultierende, mit organischem Lösungsmittel extrahierte Masse kann durch Zentrifugation gewonnen und das restliche Ethanol durch Vakuumtrocknen entfernt werden. Alternativ kann das restliche Ethanol von der zentrifugierten Masse nach dem Lipidextraktionsschritt durch dreimaliges Waschen mit 20 Volumen deionisiertem Wasser entfernt werden.

(c) Die gereinigten Stücke wurden in 10 ml frischer wäßriger 0,9 %iger NaCl-Lösung plaziert und in der Mühle ohne Rest geteilt. Der pH wurde auf 9,0 unter Verwendung von 5N NaOH eingestellt und etwa 120 mg feingepulvertes Bernsteinsäureanhydrid wurde zugegeben. Die resultierende Suspension wurde dann während 60 Sekundenintervallen bei Raumtemperatur gemahlen. Zwischen den Intervallen wurde der pH wieder eingestellt auf 8,5 unter Verwendung von 1N NaOH, bis der pH des gemahlenen Materials bei etwa pH 7,0 zu stabilisieren scheint.

Dann wurde eine zweite Menge Bernsteinsäureanhydrid von 120 mg zu der Suspension zugegeben und die Homogenisierung mit pH-Einstellung auf 8,5 unter Verwendung von 1N NaOH, gefolgt von 60-sekündigen Pulverisierungsläufen, fortgesetzt. Die pH-Einstellungen wurde gestoppt, wenn die faserige Masse in eine transparente, gallertartige Masse umgewandelt war. Der pH wurde dann auf 12 unter Verwendung von 5N NaOH erhöht, um die Reaktion zu stoppen. Das solubilisierete Produkt besteht aus dem gleichen Typ telopeptidhaltigem, vernetzbarem Collagen, wie es in Beispiel 1, Teil (c), beschrieben wurde.

(d) Nach zwei Minuten wurde der pH auf 4,2 unter Verwendung von 1N HCl reduziert, um das solubilisierete Collagen in einer weißen bis grauen, faserigen Masse zu präzipitieren. Das Präzipitat wurde viermal mit pH 4,2 deionisiertem Wasser gewaschen und bei etwa 10 000 x g zentrifugiert, um überschüssige Flüssigkeit zu entfernen. Die resultierende Masse wog 43 mg und wurde in einer ausgeglichenen Salzlösung (Akorn) bei etwa 0,25 % Feststoffen und pH 7,2 rekonstituiert.

Diese ausgeglichene Salzlösung (Akorn) enthält pro ml: 0,64 % Natriumchlorid, 0,075% Kaliumchlorid, 0,048% Calciumchlorid, 0,03 % Magnesiumchlorid, 0,39 % Natriumacetat, 0,17 % Natriumcitrat und ausreichend Natriumhydroxid und/oder Salzsäure, um den pH des resultierenden Produkts einzustellen, plus ausreichend Wasser, um eine Produktform zu schaffen, die für die Injektion geeignet ist.

Die verdünnte Collagenlösung wurde dann durch einen 0,45 μ Gelman-Spritzenfilter filtriert, um alle vorhandenen Feststoffteilchen zu entfernen. Vorzugsweise wird die Lösung durch einen 0,2 μ Filter filtriert, der fähig ist, feinere Teilchen (wie

Mikroorganismen) zu filtrieren, um einen akzeptierbaren Sterilitätsgrad zu erzielen.

Die resultierende, gefilterte Lösung wurde in einem sterilen Zentrifugenröhrchen plaziert und der pH auf 4,2 eingestellt, um das Collagen zu repräzipitieren. Das Material wurde bei etwa 10 000 x g zentrifugiert, um das Präzipitat zu gewinnen, und das Präzipitat wurde auf pH 7,2 durch tropfenweise Zugabe von 1N NaOH eingestellt. Das resultierende Material bei etwa 2 bis 3 % Feststoffen (Collagen) war transparent, schwach trüb, viskos und ergab bei etwa 2 cm³ eine viskoelastische Lösung.

(e) Dieses Verfahren ergab eine vollständige Solubilisierung des Telozeptidcollagens der menschlichen Haut. Das Lösungsprodukt kann verwendet werden, um die Hornhaut des gleichen Spenders gemäß dem in Verbindung mit der Form der Figuren 1 bis 2 beschriebenen Verfahren wieder zu formen.

BEISPIEL 5 - teilweise Solubilisierung von menschlichem Collagen

Zur Herstellung injizierbaren Collagens, um Hautdefekte zu korrigieren, ist es notwendig, den Solubilisierungsprozess zu beschränken, damit ein mehr faseriges, robustes Produkt erhalten wird. Somit verwendet die Herstellung von menschlichem Collagen für die dermale Injektion nur die teilweise Solubilisierung des Telozeptidcollagens.

Das Verfahren von Beispiel 4 wurde wiederholt, wobei wieder die Mühle verwendet wurde, um die Gewebemasse zu zerstören und zu pulverisieren, um eine weiße, zähflüssige Masse von collagenem Gewebe zu schaffen. Die Solubilisierung wurde in der Mühle durch Behandlung mit Bernsteinsäureanhydrid bewirkt, aber die Reaktion wurde gestoppt, als die faserige Masse als ein heterogenes Gemisch von großen, faserigen Stücken und feinen, pulverigen Teilchen in einer gallertartigen Masse erschien. Nur eine Bernsteinsäureanhydridzugabe war notwendig, und 6 pH-Einstellungen wurden durchgeführt. Das Produkt bestand aus dem gleichen Typ telozeptidhaltigem, vernetzbarem Collagen, wie es in Beispiel 2 beschrieben ist.

Das Gemisch wurde bei etwa 10 000 x g während 20 Minuten zentrifugiert, um die großen Partikel von dem feinen, pulverigen Material in der gallertartigen Masse zu trennen. Die gallertartige Masse, die frei von großen Partikeln war, konnte durch eine Nadel mit Kaliber (gauge) 25 injiziert werden. Wenn sie in eine ausge-

glichene Salzlösung (Akorn) [vergleiche Beispiel 4] injiziert wurde, aggregierten die feinen Teilchen in eine faserige Masse, die als ein Autoimplantat zur Korrektur von Hautdefekten verwendet werden kann.

Das Produkt wird mit Glycerol vereinigt, um die Collagenfaserbildung zu verzögern und die Collagenpräparation zu stabilisieren, und sie wurde dann durch Injektion in die Papillarhautregion injiziert, um eine Masse im intradermalen Gewebe der Haut des Spenders zu bilden, um lokale Stellen von Hautvertiefungen zu eliminieren. Dies ist gefolgt von der in situ UV-Bestrahlung, um eine Vernetzung zu erreichen. Alternativ kann das Vernetzen durch gamma-Bestrahlung, chemisches Härten mit Glutaraldehyd und Kombinationen von Dehydrierung und UV-Bestrahlung erreicht werden.

BEISPIEL 6 - Brechungsindex - modifiziertes Collagen

Das Verfahren von Beispiel 4 wurde wiederholt mit der Ausnahme, daß die Reaktion unter Verwendung von Anilin-2-sulfonsäure anstatt Bernsteinsäureanhydrid durchgeführt wurde, um ein vollständig gelöstes Telozeptidcollagen mit dem gleichen hohen Brechungsindex, wie das in Beispiel 3 beschriebene Produkt, zu schaffen. Das Lösungsprodukt wird als Hornhautautoimplantatmaterial, wie vorstehend beschrieben, verwendet:

BEISPIEL 7 - Collagenfilmherstellung

Ein ml vollständig solubilisiertes, telozeptidhaltiges Collagen, das gemäß dem Verfahren von Beispiel 4 hergestellt wurde, wurde in einem konkaven Mikroskopobjektträger plaziert, der als einfache konkave Form diente. Die Probe wurde 9,5 cm unter einer Gelman Model 51938 UV-Lampe positioniert, und beides wurde in einem versiegelten Polyethylenbeutel plaziert. Sauerstoff wurde evakuiert durch Spülen mit Stickstoff während 15 Minuten. Die UV-Lampe wurde aktiviert und das Spülen während der UV-Bestrahlung fortgesetzt. Das Licht wurde bei 253,7 nm während 20 Minuten bei Raumtemperatur illuminiert. Der Objektträger wurde auf feuchten Papiertüchern plaziert, um Feuchtigkeit zu schaffen und eine Dehydrierung der Lösung zu verhindern. Die Bestrahlung vernetzte das Collagen in einen dünnen, flexiblen, konkaven Film, der transparent und schwach gelb war.

Ein alternatives Verfahren zum Evakuieren des Sauerstoffs ist das Plazieren von Gaspak (Becton Dickinson & Co., BBL Microbiolgy System, enthaltend Natriumborhydrid und Natriumcarbonat) in der geschlossenen Kammer während 15 Minuten.

Vergleichbare Ergebnisse werden unter Verwendung alternativer Verfahren zum Härten des Collagens, einschließlich Vernetzen durch gamma-Bestrahlung, chemisches Vernetzen mit Glutaraldehyd als Gerbstoff oder Härtungsmittel und Kombinationen von Dehydrierung und UV-Bestrahlung zur Vernetzung erhalten.

BEISPIEL 8 - Solubilisierung mit Veresterung

Beispiel 4 wurde wiederholt mit der Ausnahme, daß in Teil (d), bevor die zentrifugierte Masse in einer ausgeglichenen Salzlösung rekonstituiert wird, dem Vakuumtrocknen unterzogen wird, um vorhandenes Wasser zu entfernen, und dann mit 20 ml dehydriertem Ethanol als carbonsäurereaktives Modifizierungsmittel vereinigt wird, das mit 0,1 N HCl auf einen pH von nicht mehr als etwa 3,2 angesäuert wurde, und bei Raumtemperatur (25°C) während etwa 30 Minuten unter Rühren in einem geschlossenen Gefäß umgesetzt wird, um das nicht wäßrige Reaktionsgemisch aufrechtzuerhalten. Das Ethanol ist in einem großen Überschuß über der benötigten Menge zugegen, um die verfügbaren Carbonsäuregruppen der Aminogruppen des in Teil (c) hergestellten, acylierten (succinylierten), telopeptidhaltigen Collagens zu verestern.

Nach der Ethylierung wird das Collagen durch Vakuumtrocknen gewonnen. Alternativ wird das Reaktionsgemisch mit einem gleichen Volumen Ethylether gemischt und mit deionisiertem Wasser extrahiert. In beiden Fällen wird das resultierende Präzipitat viermal mit deionisiertem Wasser, pH 4,2, gewaschen und bei etwa 10 000 x g zentrifugiert, um überschüssige Flüssigkeit zu entfernen. Die resultierende Masse wird dann in einer ausgeglichenen Salzlösung (Akorn) [vergleiche Beispiel 4] bei etwa 0,25 % Feststoffen und pH 7,2 rekonstituiert, und der verbleibende Teil des Beispiels 4, Teil (d), wird dann durchgeführt.

In dem amplifizierten Verfahren dieses Beispiels werden die Carboxylgruppen des Collagens durch eine Veresterungsreaktion mit dem Ethanol modifiziert, um die Ladung an den Collagenmolekülen zu ändern und eine collagene Molekularstruktur zu schaffen, die bei neutralem pH in wäßrigem Medium löslicher ist.

Die drei helikalen Stränge des Tropocollagenmoleküls bleiben an ihre entsprechenden Telopeptidreste verbunden, um das ursprüngliche Polypeptidhauptkettenanordnung beizubehalten, wobei jedoch nun zwei acylierte (succinylierte) Amingruppen und veresterte (ethylierte) Carboxylgruppen (Carbonsäureethylester) enthalten sind.

Das Produkt wird in der gleichen Weise wie das von Beispiel 4 verwendet.

BEISPIEL 9 - Solubilisierung durch alleinige Veresterung

Beispiel 4, Teile (a) und (b) werden wiederholt, und die gereinigten Stücke von pulverisiertem Material werden durch Vakuumtrocknen getrocknet, um vorhandenes Wasser (oder gefriergetrocknetes) zu entfernen, und dann in der Gewebemühle mit 40 ml dehydriertem Ethanol als carbonsäurereaktives Modifizierungsmittel vereinigt, das mit 0,1 N HCl auf einen pH von nicht mehr als etwa 3,2 angesäuert wurde. Nach Schließen und Inbetriebnehmen der Mühle wird die Suspension bei Raumtemperatur (25°C) während etwa 30 Minuten umgesetzt. Während dieser Zeit wird das nicht wäßrige Reaktionsgemisch durch Geschlossenhalten der Mühle beibehalten. Das Ethanol ist in einem großen Überschuß über der benötigten Menge zugegen, um die verfügbaren Carbonsäuregruppen des telopeptidhaltigen Collagens zu verestern.

Nach der Ethylierung wird das Collagen gewonnen und in der gleichen Weise, wie in Beispiel 8 beschrieben, aufgearbeitet. In diesem Verfahren werden die Carboxylgruppen des Collagens durch eine Veresterungsreaktion mit dem Ethanol modifiziert, um die Ladung an den Collagenmolekülen zu ändern und eine collagene, molekulare Struktur zu schaffen, die bei neutralem bis basischem pH in wäßrigem Medium löslich ist.

Das solubilisierete Produkt stellt ein aus chemisch modifiziertem, vernetzbarem, telopeptidhaltigem Collagen dar, das sich von dem Produkt von Beispiel 1 nur darin unterscheidet, daß die Stränge des Triple-Helix-Moleküls veresterte (ethylierte) Carboxylgruppen (Carbonsäureethylester) anstatt acylierter (succinylierter) Amingruppen enthalten, die in analoger Weise das Collagen bei neutralem oder basischem pH löslich machen.

Das Produkt wird in der gleichen Weise wie das von Beispiel 4 verwendet.

Vergleichbare Ergebnisse sind erhältlich unter Verwendung von dehydriertem Methanol, Phenol (in Aceton) und alpha-Naphthol (in DMF), angesäuert mit 0,1 N HCl. Alternativ kann in jedem Fall die Reaktion vor vollständiger Solubilisierung gestoppt werden und das gewünschte Produkt gewonnen, gereinigt und in entsprechender Weise aufgearbeitet werden, um ein zu den Beispielen 2 und 5 analoges Produkt zu bilden.

In Verbindung mit den vorstehenden, spezifischen Beispielen können die folgenden Produktherstellungen verwendet werden:

- a. injizierbare Lösungs, Konzentration etwa 1 bis 5 % Collagengehalt,
- b. vorgeformte ophthalmische Implantat(vorrichtung), etwa 2 bis 10 % Collagengehalt,
- c. Gewebevermehrungsimplantat, etwa 2 bis 10 % Collagengehalt.

Patentansprüche

1. Zusammensetzung zur Autoimplantation in einen Menschen umfassend menschliches Collagen von einem einzigen menschlichen Spender, das aus zerkleinertem intaktem menschlichem Gewebe stammt und vernetzbares Telozeptid umfaßt, wobei das Collagen mindestens eine acylierte Amingruppe oder eine veresterte Carbonylgruppe aufweist.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, die hergestellt wurde, indem zerkleinertes menschliches Gewebe, das natürlich vernetztes menschliches telopeptidhaltiges Collagen enthält, mindestens mit einem Aminacylierungsmittel oder einem mit einer Carbonsäure reaktiven Veresterungsmittel umgesetzt wird, um das Collagen zumindest teilweise zu solubilisieren.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, die die acylierte Amingruppe enthält, die mindestens ein Mitglied ist ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus aliphatischen Carbonyl-, aromatischen Carbonyl-, aliphatischen Sulfonyl- und aromatischen Sulfonylacylresten.
4. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, die die veresterte Carboxylgruppe enthält, die mindestens ein Mitglied ist ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus aliphatischen und aromatischen Esterresten.
5. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin das telopeptidhaltige menschliche Collagen chemisch modifiziert wurde mit einem aminreaktiven Acylierungsmittel in einem Gewichtsverhältnis von etwa 1 : 0,005 bis 1 : 0,5, bezogen auf das Gewicht des nassen Gewebes.
6. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin das telopeptidhaltige menschliche Collagen chemisch modifiziert wurde mit einem Carbonsäureveresterungsmittel in einem Gewichtsverhältnis von etwa 1 : 1 bis 1 : 30, bezogen auf das Gewicht des trockenen Gewebes.

7. Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin die Zusammensetzung einen Brechungsindex von etwa 1.500 bis etwa 1.600 hat.

8. Geformter Gegenstand hergestellt aus der Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

9. Verfahren zur Herstellung einer Zusammensetzung umfassend vernetzbares, telopeptidhaltiges Collagen nach einem der Ansprüche 1 bis 7, aus intaktem menschlichem Gewebe, das umfaßt, daß man Gewebe von einem einzigen menschlichen Spender zerkleinert und dann mindestens mit

- (a) einem aminreaktiven Acylierungsmittel bei im wesentlichen neutralem bis basischem pH in wäßrigem Medium umgesetzt, um mindestens teilweise solubilisiertes telopeptidhaltiges Collagen mit vernetzbaren acylierten Amingruppen zu bilden, das zumindest teilweise in dem Medium gelöst ist oder
- (b) einem mit einer Carbonsäure reaktivem Veresterungsmittel bei saurem pH in einem organischen Medium umgesetzt, um ein zumindest teilweise solubilisiertes telopeptidhaltiges Collagen mit vernetzbaren veresterten Carboxylgruppen zu bilden, das zumindest teilweise in dem Medium gelöst ist.

10. Verfahren nach Anspruch 9, bei dem:

- (a) die Reaktion mit dem Acylierungsmittel bei etwa 0 bis 45°C und bei einem Gewichtsverhältnis von Acylierungsmittel zu nassem Gewebe von etwa 0,005 bis 0,5 : 1 durchgeführt wird, wobei der pH des wäßrigen Mediums bei etwa 7 bis 11 gehalten wird und
- (b) die Reaktion mit dem Veresterungsmittel bei etwa 0 bis 45°C und einem Gewichtsverhältnis von Veresterungsmittel zu trockenem Gewebe von etwa 1 bis 30 : 1 in einem nicht wäßrigen organischen Medium in Gegenwart einer katalytischen Menge einer Säure durchgeführt wird.

11. Verfahren nach Anspruch 9 oder Anspruch 10, bei dem das Acylierungsmittel ein aliphatisches oder aromatisches Carbonsäureanhydrid, ein Carbonsäureester, Carbonsäurehalogenid, Sulfonsäure

oder sulfonsäurehaltiges Halogenid ist und das Veresterungsmittel ein angesäuerter aliphatischer oder aromatischer Alkohol ist.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 11, bei dem vorhandene, nicht collagene Proteinverunreinigungen aus dem Gewebe vor der Reaktion entfernt werden.

13. Verfahren nach Anspruch 12, bei dem die Verunreinigungen entfernt werden, indem das Gewebe bei einer Temperatur, die nicht höher als etwa Raumtemperatur ist, mit einer solubilisierenden Flüssigkeit mit im wesentlichen neutralem pH, die die Verunreinigungen solubilisieren kann, ohne das Collagen zu solubilisieren, in Kontakt gebracht wird, wobei das Gewebe pulverisiert wird, um ein von nicht collagenen Proteinverunreinigungen im wesentlichen freies pulverisiertes Gewebe zu bilden und das von Verunreinigungen freie Gewebe anschließend umsetzt, um das telopeptidhaltige Collagen zu bilden.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 13, bei dem vorhandene Lipidbestandteile aus dem Gewebe vor der Reaktion entfernt werden.

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 14, bei dem das Gewebe von einem einzigen Spender erhalten wurde, die Reaktion durchgeführt wird bis das Collagen im wesentlichen vollständig in dem Medium solubilisiert ist und das solubilisierte Collagen gewonnen, gereinigt und mit einer wäßrigen Flüssigkeit vereinigt wird, um eine telopeptidhaltige Collagenlösung zu bilden.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 15, bei dem das Gewebe von einem einzigen Spender erhalten wurde, das Mittel ein aminreaktives Acylierungsmittel ist, das einen selektiven Brechungsindex von etwa n_D 1.500 bis etwa n_D 1.600 hat und das Collagen modifizieren kann, so daß im wesentlichen solubilisiertes Collagen mit einem hohen Brechungsindex bereitgestellt wird, das das Sehvermögen korrigieren kann, die Reaktion durchgeführt wird, bis das Collagen im wesentlichen vollständig in dem wäßrigen Medium solubilisiert ist und das solubilisierte Collagen gewonnen, gereinigt und mit einer wäßrigen Flüssigkeit vereinigt wird, um

eine telopeptidhaltige Collagenlösung zu bilden mit einem selektiven hohen Brechungsindex, um das Sehvermögen zu korrigieren.

17. Verfahren nach Anspruch 16, bei dem das Mittel Anilin-2-sulfonsäure, 3-Nitrobenzolsulfonsäure, 2-Formylbenzolsulfonsäure, 1,3-Benzoldisulfonsäure oder 1,2,4,5-Benzoltetracarbonsäuredianhydrid ist.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 14, bei dem das Gewebe von einem einzigen Spender erhalten wurde, die Reaktion durchgeführt wird bis das Collagen nur teilweise in dem Medium solubilisiert ist, um eine Mischung zu liefern, die suspendierbare feine faserige Teilchen aus unsolubilisiertem telopeptidhaltigem Collagen in einer homogenen Masse aus solubilisiertem telopeptidhaltigem Collagen enthält und die suspendierbaren feinen Teilchen und das solubilisierete Collagen gewonnen, gereinigt und mit einer wäßrigen Flüssigkeit vereinigt werden, um eine im wesentlichen homogene Lösung mit suspendiertem telopeptidhaltigem Collagenmaterial mit acylierten Amingruppen oder veresterten Carboxylgruppen zu bilden.

19. Verfahren zur Herstellung einer Implantatvorrichtung aus telopeptidhaltigem Collagen, das umfaßt, daß man eine Zusammensetzung, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 beansprucht, zu einer Masse mit ausgewählter Form und Größe, die einer wirksamen Implantatvorrichtung entspricht, formt und danach die Masse vernetzt, um die Vorrichtung zu erzeugen.

20. Verwendung einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 umfassend zerkleinertes menschliches Gewebe von einem menschlichen Spender zur Herstellung eines Implantats zur Implantation in diesen Spender.

21. Verwendung nach Anspruch 20, wobei die acylierten Amingruppen ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus aliphatischen Carbonyl-, aromatischen Carbonyl-, aliphatischen Sulfonyl- und aromatischen Sulfonylresten.

22. Verwendung nach Anspruch 21, wobei die veresterten Carboxylgruppen ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus aliphatischen und aromatischen Esterresten.

23. Verwendung nach einem der Ansprüche 20 bis 22, wobei die Zusammensetzung einen Brechungsindex von etwa 22.500 bis etwa 22.600 hat.

24. Verwendung nach einem der Ansprüche 20 bis 23, wobei das Implantat ein intradermales Implantat ist.

25. Verwendung nach einem der Ansprüche 20 bis 23, wobei das Implantat ein opthalmisches Implantat ist.

26. Verwendung nach einem der Ansprüche 20 bis 25, wobei das Implantat in injizierbarer Form ist.

14.08.97

Fig.1.

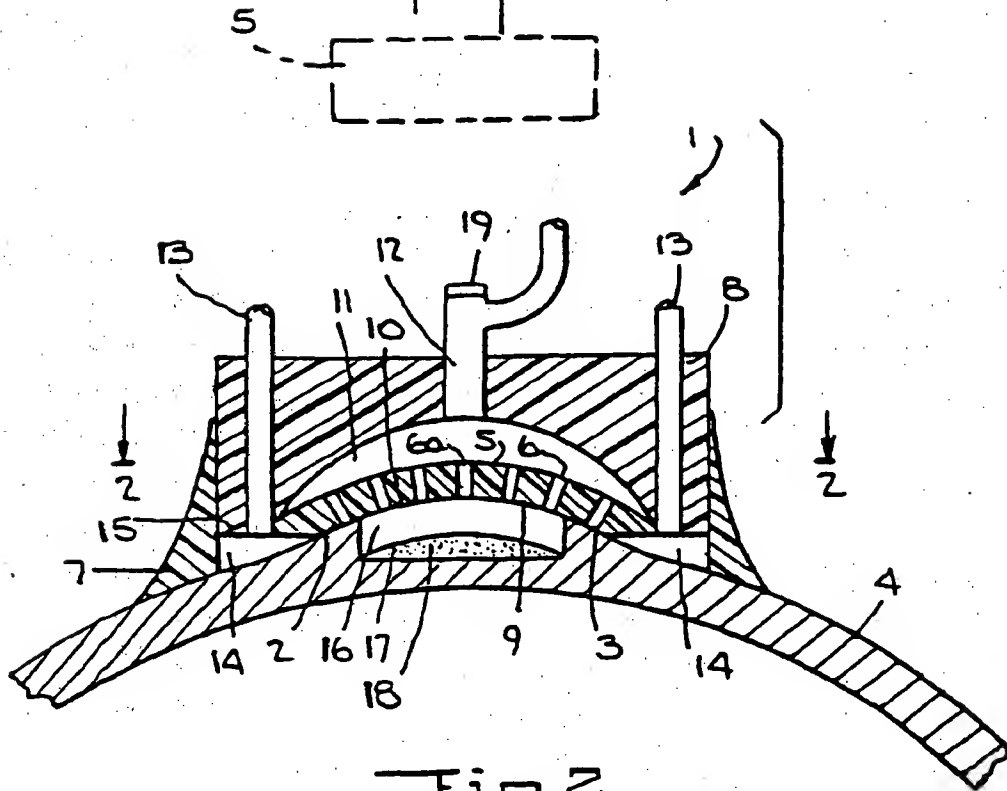


Fig.2.

